

# EVALUACION DE DIETAS ARTIFICIALES PARA LA CRIA DE *Tuta absoluta* (LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE)

Fecha de recepción: 16 de junio de 2012 • Fecha de aceptación: 21 de septiembre de 2012

## EVALUATION OF ARTIFICIAL DIETS FOR REARING OF *Tuta absoluta* (LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE)

Walter García-Suabita<sup>1,2</sup> • Daniel Rodríguez<sup>2</sup> • Fernando Cantor<sup>2</sup> • Alejandra Hilarión<sup>3</sup>

### RESUMEN

*Tuta absoluta* es una de las principales plagas que ataca el cultivo de tomate. Este fitófago en su estado larval mina las hojas y barrena el cogollo provocando disminución del rendimiento del cultivo. Actualmente, el parasitoide *Apanteles gelechiidivoris* se constituye como un método con gran potencial para el control biológico de *T. absoluta* en cultivos bajo invernadero. Actualmente, *A. gelechiidivoris* es producido utilizando larvas de *T. absoluta* en plantas de tomate, sin embargo éste método de cría resulta ser dispendioso. Por tal razón, el objetivo del presente estudio fue evaluar modificaciones a la dieta artificial propuesta por Misfeldt y Parra (1999) que puedan ser usadas en la cría de *T. absoluta*. La investigación se realizó bajo condiciones de laboratorio (18,8°C  $\pm$  0.49 y 74,8 %  $\pm$  3.96 de humedad relativa) y contó con un diseño completamente al azar evaluando modificaciones a la dieta propuesta por Misfeldt y Parra (1999) con distintas cantidades de agar y polvo de tomate. En cada modificación se registró el porcentaje de huevos eclosionados e índice de sobrevivencia de larvas de *T. absoluta*. Se encontró que una cantidad de 18 g de agar, se obtuvo el mayor porcentaje de eclosión de huevos (61.7%  $\pm$  7.5). Finalmente, se registró que con una cantidad de 7.5 g de polvo de tomate el mayor porcentaje de huevos eclosionados fue de 72.8%  $\pm$  10.7. Se concluye que ninguna de las modificaciones realizadas a la dieta artificial propuesta por Misfeldt y Parra (1999) puede ser usada como sustrato para el desarrollo de *T. absoluta*.

**Palabras clave:** porcentaje de eclosión, sustrato de desarrollo, cogollero del tomate.

1 Estudiante, Biología Aplicada, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Militar Nueva Granada, Cr.11 No. 101-80, Bogotá, Colombia

2 Docentes, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Militar Nueva Granada, Cr.11 No. 101-80, Bogotá, Colombia

3 Bióloga M Sc, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia

4 Autor para correspondencia: ecologia@unimilitar.edu.co

## ABSTRACT

*Tuta absoluta* is a major pest in tomato crop. This phytophagous in the larval stage mine and bore the leaves and the bud causing decreased crop yield. Currently, the parasitoid *Apanteles gelechiidivoris* was established as a method with great potential for biological control of *T. absoluta* greenhouse crops. Currently, *A. gelechiidivoris* is reared using larvae of *T. absoluta* in tomato plants, however this method is being wasteful. For this reason, the objective of this study was to evaluate modifications of the artificial diet proposed by Misfeldt and Parra (1999). The research was conducted under laboratory conditions ( $18.8^{\circ}\text{C} \pm 0.49$  and  $74.8 \pm 3.96\%$  relative humidity) with a completely randomized design, evaluating modifications proposed by Misfeldt and Parra (1999) with different amounts of agar and tomato powder. The percentage of eggs hatched and larvae survival rate of *T. absoluta* were recorded. With a quantity of 18 g of agar, the highest percentage of egg hatching ( $61.7\% \pm 7.5$ ) was obtained. Finally, the highest percentage of hatched eggs was  $72.8\% \pm 10.7$  with an amount of 7.5 g of powdered tomato. We conclude that none of the modifications made to the artificial diet proposed by Misfeldt and Parra (1999) can be used as a substrate for the development of *T. absoluta*.

**Keywords:** hatching porcentaje, growth substrate, tomato budworm.

## INTRODUCCIÓN

Una de las plagas que afectan en gran medida la producción de cultivos de tomate, es el gusano cogollero del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). Este lepidóptero en su estado de larva perfora, rasga y pega las hojas del cogollo, barrena el tallo, ramas y frutos propiciando la caída de botones, flores y frutos. Las larvas penetran la superficie de la hoja dejando galerías comúnmente denominadas "minas", dentro de las cuales se pueden observar las larvas a trasluz (Vélez, 1997).

El ciclo de vida de *T. absoluta* tiene cuatro estadios: huevo (4-8 días), larva (13-23 días), pupa (8-15 días) y adulto (8.6 días). La duración de los estados está directamente relacionada con la dieta a lo largo del desarrollo y factores ambientales como la temperatura (Vélez, 1997).

En los últimos años, la Universidad Militar Nueva Granada (UMNG), ha ampliado la información acerca de éste parasitoide en cuanto a su biología y ciclo reproductivo (Bajonero et al., 2008), instar larval de

preferencia (Escobar et al., 2004), comportamiento en conjunto con el control etológico en condiciones de campo (Morales et al., 2008), influencia de factores como temperatura en su capacidad parasítica (Bajonero et al., 2008) y nivel de daño en cultivos de tomate (Cely et al., 2006). Los anteriores resultados, han permitido considerar al parasitoide *A. gelechiidivoris* como un controlador con gran potencial para disminuir las poblaciones de la plaga en cultivos de tomate bajo invernadero, sin presentar los mismos problemas que el control químico.

Adicionalmente, se ha reportado que con el uso de *Apanteles gelechiidivoris* se ha logrado un parasitismo hasta del 70% de larvas de *T. absoluta* (Morales y Muñoz, 2008). Aunque el control biológico de ésta plaga con *A. gelechiidivoris* resulta ser efectivo bajo condiciones de invernadero, debe garantizarse de manera continua y en las cantidades requeridas el suministro del enemigo natural. Razón por la cual, en la UMNG se han desarrollado algunos pies

de crías del parasitoide sobre dietas naturales con plantas de tomate, sistema que aunque efectivo, requiere gran cantidad de mano de obra, insumos y área, y además no supe con la demanda de los productores del sector tomatero. Por lo que, se ha considerado la evaluación de sustratos artificiales para la producción de la plaga como recurso para la oviposición del enemigo natural. Lo anterior, debido a que se ha demostrado que el uso de estos sistemas permite optimizar e incrementar los volúmenes de producción.

Mihsfeldt y Parra (1999) desarrollaron una dieta artificial para la cría de *T. absoluta*. Sin embargo, recomendaron que para aumentar la sobrevivencia de las larvas se deberían realizar modificaciones a las cantidades de agar y polvo de tomate a la dieta artificial ya establecida por ellos. Lo anterior con el fin de usar este sustrato artificial para la cría de *T. absoluta* en laboratorio.

Por tal motivo, el objetivo del presente artículo fue evaluar el efecto de modificaciones realizadas a la dieta artificial propuesta por Misfeldt y Parra (1999) sobre larvas de *T. absoluta*, en términos de en sobrevivencia y longitud de cápsula cefálica bajo condiciones de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Control Biológico de la Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas de la Universidad Militar Nueva Granada, ubicado en el municipio de Cajicá-Cundinamarca.

### Obtención del material biológico

Los adultos de *T. absoluta* fueron colectados de la cría del parasitoide en instalaciones de la UMNG en Cajicá. Para la obtención de huevos de *T. absoluta*, se ubicaron hojas de tomate y adultos de *T.*

*absoluta* (en una proporción de 5:1 ♂:♀) en cajas plásticas (33 x 24 x 10cm), bajo condiciones de laboratorio (18,8°C ±0.49 y humedad relativa de 74,8 %±3.96). Estos adultos permanecieron en las cajas durante 24 horas, y pasado éste tiempo fueron retirados.

Los huevos obtenidos fueron trasladados a las unidades experimentales que se enuncian a continuación con un pincel pelo de Marta.

### Evaluación de las modificaciones a la dieta propuesta por Misfeldt y Parra (1999)

Previo a la realización del experimento se evaluó el mejor sustrato de eclosión de huevos, con el fin de obtener un mayor número de larvas para los ensayos de evaluación del efecto de modificaciones realizadas en la dieta de Mihsfeldt y Parra (1999).

Para lo anterior, se contó con un diseño completamente a azar, con dos tratamientos y 6 repeticiones por cada uno. Los tratamientos consistieron de los siguientes sustratos de eclosión: 1) papel absorbente y 2) dieta artificial (reportada por Mihsfeldt y Parra, 1999 con 18 g de agar). Las unidades experimentales fueron cajas de Petri con el sustrato de eclosión a evaluar, sobre el cual se ubicaron 10 huevos de *T. absoluta*. Lo anterior permaneció bajo condiciones de laboratorio (18,8°C ±0.49 y humedad relativa de 74,8 %±3.96) durante 14 días, tiempo en el cual se registró el porcentaje de eclosión de larvas.

Para la evaluación de las modificaciones en las cantidades de agar y polvo de tomate de la dieta artificial propuesta por Mihsfeldt y Parra (1999) (Tabla 1), el experimento contó con un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos para cantidades de agar (16, 18, 20 y 22 g/l) y tres tratamientos para las concentraciones de polvo de tomate (7.5, 15 y 25 g), cada uno con seis repeticiones. Lo anterior, se realizó con el fin de determinar cuál de éstas modificaciones era la más adecuada para la cría de *Tuta absoluta* bajo condiciones de laboratorio.

**Tabla 1.** Composición de dieta para *Tuta absoluta* reportada por Mihsfeldt & Parra (1999).

Componente	Estimado
Fríjol	75.0 g
Gérmen de trigo	60.0 g
Salvado de soya	30.0 g
Caseína	30.0 g
Levadura de cerveza	37.5 g
Ácido ascórbico	3.6 g
Ácido sorbico	1.8 g
Metilparahidrobenczoato	3.0 g
Tetraciclina	113.0 g
Formaldehido	3.6 g
Solución vitamínica (niacinamida: 1.0 g. pantoneato de calcio: 1.0 g. tiamina: 0.5 g. piridoxina: 0.25 g. ácido fólico: 0.1 g. biotina: 0,02 g. vitamina B12 (1000mg/cc): 2.0 ml	9.0 g
Agar	23.0 g
Agua	1200.0 ml

**Registro de datos**

Con la ayuda de un estereoscopio, se registró el porcentaje de eclosión de huevos, índice de sobrevivencia y longitud de la cápsula cefálica de instares larvales al que llegaron en cada una de las modificaciones de la dieta artificial evaluada.

La longitud de la cápsula cefálica se obtuvo usando el método descrito por Dyar (1890), el cual consiste en medir los extremos de los bordes laterales de ésta región en cada uno de los individuos. Para esto, se tomaron fotografías (con un aumento de 5X) a las cápsulas cefálicas de las larvas en cada uno de los tratamientos evaluados. La longitud de éstas cápsulas fue calculado mediante el procesamiento de las imágenes en el software Image J.

Además se registraron variables abióticas como humedad relativa y temperatura con la ayuda de un higrotermómetro digital (HOBO).

**Análisis de resultados**

Se realizó una prueba de t student para los datos obtenidos de porcentaje de huevos eclosionados en la evaluación del mejor sustrato de eclosión. Además, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de eclosión huevos, sobrevivencia y longitud de cápsula cefálica de larvas de *T. absoluta*, así como también pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y de comparación de medias de Tukey con ayuda del software estadístico R versión 2.12.2.

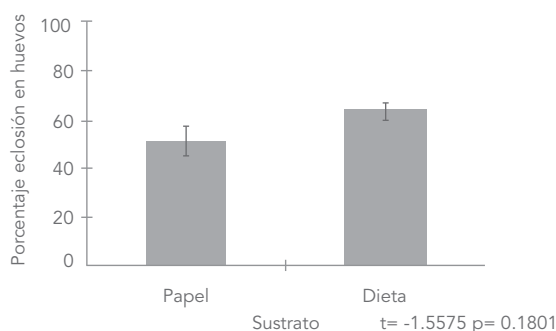
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Efecto de diferentes sustratos en el porcentaje de eclosión de huevos de *T. absoluta***

Se encontró que el mayor porcentaje de eclosión de huevos (63%) fue obtenido colocando directamente los huevos sobre la dieta artificial reportada por Mihsfeldt y Parra (1999) con 18 g de agar (Fig. 1). Lo anterior concuerda con lo reportado por Pierce y Monk (2007), Limonta *et al.* (2010a y 2010b), quienes

determinaron que a humedades relativas mayores al 70% y temperatura de 17°C se obtiene una eclosión de 63% para varias familias de lepidópteros, similar a lo obtenido en este caso donde la eclosión fue en promedio de 63.3% huevos.

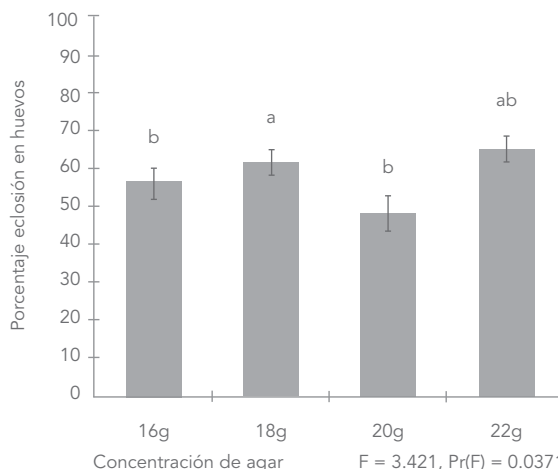
Sin embargo, no se presentaron diferencias significativas entre los dos tratamientos evaluados ( $p = 0.1801$ ), razón por la cual se decidió no usar papel como sustrato de eclosión, ya que la manipulación podría aumentar la mortalidad propia de las larvas de *T. absoluta*.



**Figura 1.** Porcentaje de eclosión de huevos en diferentes sustratos (papel y dieta artificial). ( $18,8 \pm 0,49^\circ\text{C}$  y  $74,8 \pm 3,96\%$ ).

En la Fig.2 se observa que en la concentración de 18 g de agar la eclosión es significativamente mayor ( $p=0.0371$ ) a los otros tratamientos, teniendo en cuenta que en la dieta artificial la humedad relativa puede llegar al 75%, similar a lo reportado como óptima (76.17%) para el desarrollo de *T. absoluta* (Fernández y Montagne, 1990).

Por otro lado, el índice sobrevivencia en días (Fig.3) fue significativamente mayor ( $p=0.00303$ ) en el tratamiento de 18 g de agar. Lo anterior debido a que según Mihsfeldt y Parra (1999), la dureza del medio puede dificultar la alimentación de las larvas. Como se puede observar en este caso, en las concentraciones de 20 y 22g de agar se redujo la sobrevivencia de las larvas, debido a la dificultad que podría presentar al tratar de alimentarse de la dieta artificial.

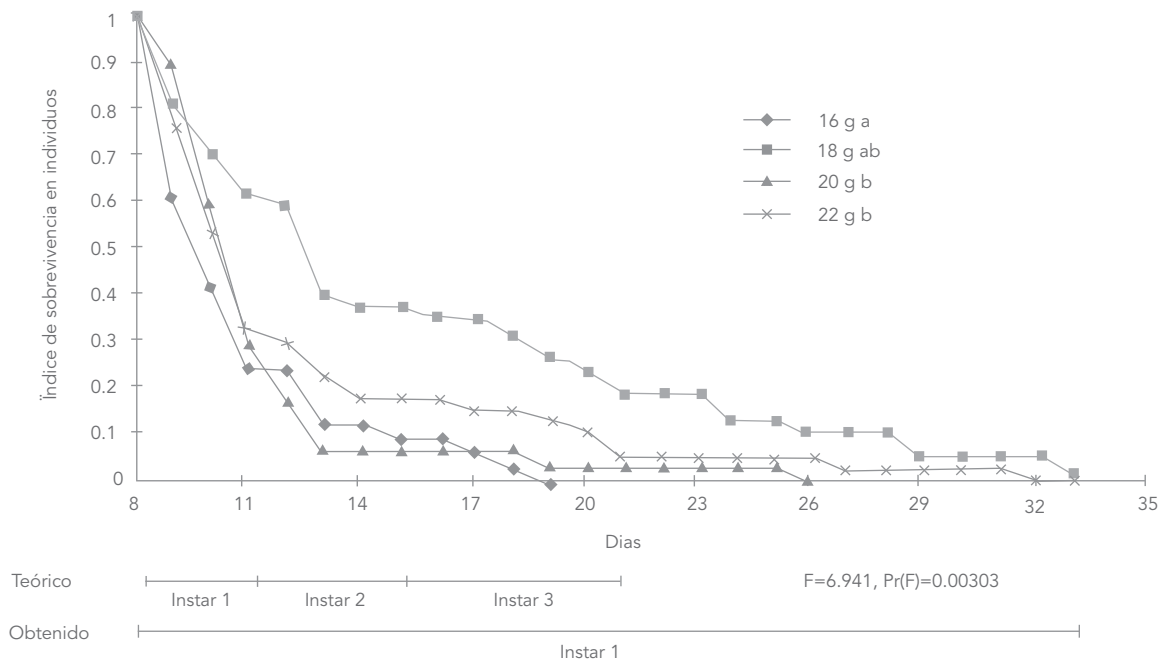


**Figura 2.** Porcentaje de huevos eclosionados en diferentes concentraciones de agar ( $18,8 \pm 0,49^\circ\text{C}$  y  $74,8 \pm 3,96\%$ ) (Barras con diferente letra indica diferencias significativas entre tratamientos con respecto a la prueba de Tukey).

En la Fig. 3. también muestra que al disminuir la concentración de agar, se obtiene una mayor sobrevivencia de larvas de *T. absoluta*, lo cual concuerda con lo reportado por Bavaresco et al. (2005) quienes recomendaron disminuir la concentración de agar para la cría *Hypocala andremona*, ya que éste factor favorecía el aumento en la sobrevivencia y desarrollo de éste lepidóptero. Adicionalmente, si el sustrato artificial presenta una baja humedad provoca que las larvas se deshidraten aumentando su mortalidad y reduciendo significativamente la sobrevivencia en su ciclo de desarrollo.

#### Efecto de la cantidad de polvo de tomate en dieta artificial, sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de *T. absoluta*

En la Fig. 4 se observa que se presentaron diferencias significativas ( $p= 2.36 \times 10^{-6}$ ) en cuanto al efecto de diferentes concentraciones de polvo de tomate sobre la eclosión de huevos, siendo la concentración de 7.5 g de polvo de tomate en la cual se obtiene un mayor número de individuos. Esto puede deberse principalmente a la textura del medio, ya que el aumento en la concentración de polvo de tomate puede disminuir la humedad propia de la dieta. Lo

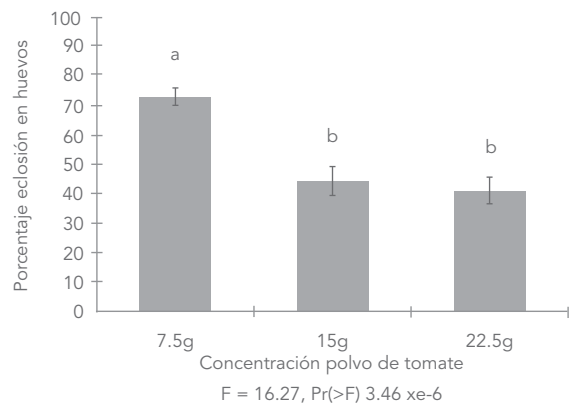


**Figura 3.** Sobrevivencia promedio de larvas a diferentes concentraciones de agar ( $18,8 \pm 0,49^\circ\text{C}$  y  $74,8 \pm 3,96\%$ ) (Tratamientos con diferente letra indican diferencias significativas entre tratamientos con respecto a la prueba de Tukey).

anterior coincide con Quyyum y Zalucky (1987), quienes reportan que al disminuir la humedad relativa a menos del 75%, se obtiene una eclosión menor al 56%, lo cual indica que no es necesario usar cantidades mayores del material vegetal, disminuyendo considerablemente los costos de producción de plantas de tomate para obtener éste componente para la dieta artificial.

Se presentaron diferencias significativas entre la sobrevivencia de larvas, siendo mayor en la concentración de 22.5 g de polvo de tomate (53%) (Fig.5), la cual es menor a la reportada en la dieta natural (63% de sobrevivencia) (Medeiros et al., 2009).

Por otra parte, al evaluar las diferentes concentraciones del material vegetal se encontró que en la concentración más baja de polvo de tomate (7.5 g) la duración del estado larval fue mayor a la reportada por Mihsfeldt y Parra (1999), quienes obtuvieron una duración larval de 18.52 días con una concentración de 15 g.



**Figura 4.** Porcentaje de huevos eclosionados en cada concentración de polvo de tomate ( $18,8 \pm 0,49^\circ\text{C}$  y  $74,8 \pm 3,96\%$ ) (Barras con diferente letra indica diferencias significativas entre tratamientos con respecto a la prueba de Tukey).

En la Fig. 6 se observa que los individuos sometidos a las modificaciones de la dieta artificial no pasaron del primer instar, lo cual se puede deber a que como lo establecen Pinheiro et al. (2006) y Morton

(1979), lo cual se puede deber a que como lo establecen Pinheiro *et al.* (2006) y Morton(1979), bajas cantidades de ácidos grasos en la fuente de celulosa pueden limitar el desarrollo de las larvas, principalmente esteroides que son los precursores de la hormona

de la muda provocando la muerte de larvas en los primeros estadios de desarrollo. Además de este factor, se ha determinado que la deficiencia de la vitamina BT (L-carnitina) provoca retraso en el desarrollo y disminuye la movilidad de las larvas (Genc, 2006).

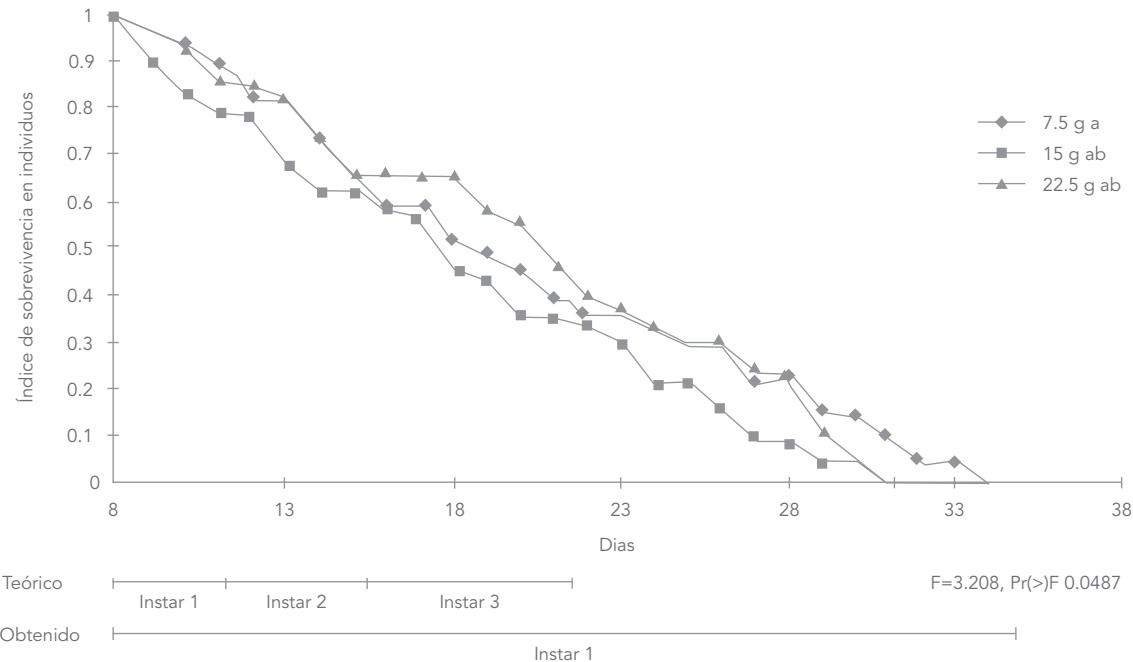


Figura 5. Sobrevivencia de larvas a diferentes concentraciones de polvo de tomate ( $18,8 \pm 0,49^\circ\text{C}$  y  $74,8 \pm 3,96\%$ ).

## CONCLUSIONES

Ninguna de las modificaciones evaluadas de la dieta artificial podría emplearse para la cría de *T. absoluta*, debido a que este fitófago no completó su ciclo de desarrollo..

El uso de concentraciones bajas de polvo de tomate y agar favorece la sobrevivencia de las larvas de *T. absoluta*, lo que indica que al reducir estos factores se evitaban gastos excesivos de los mismos, sin alterar el desarrollo del fitófago. del fitófago.

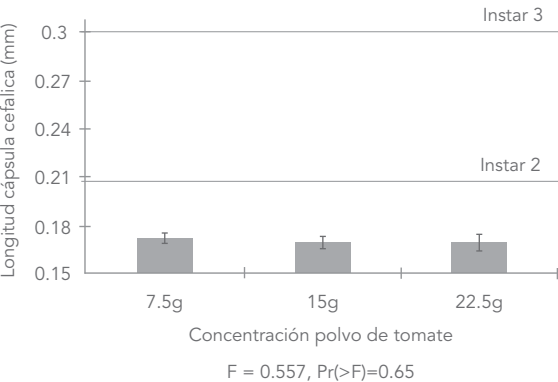


Figura 6. Longitud de la cápsula cefálica de larvas en dietas artificiales con diferentes concentraciones de polvo de tomate ( $18,8 \pm 0,49^\circ\text{C}$  y  $74,8 \pm 3,96\%$ ).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bajonero J, Cordoba, N, Cantor F, Rodríguez, D y Cure J. 2008. biología y ciclo reproductivo de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de *tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Agronomía Colombiana. 26(3):417-425.
2. Bavaresco A, García M, Bottom M y Nondillo A. 2005. Avaliação de dietas artificias para criação de *Hypocala andremona* (Stoll, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae). Revista de ciencias agroveterinarias. 24(2):94-100.
3. Cely P., Liliana Cantor, Fernando; Rodríguez, Daniel. 2010. "Determination of levels of damage caused by different densities of *Tuta absoluta* populations (Lepidoptera: Gelechiidae) under greenhouse conditions". Agronomía Colombiana. 28(3):401-411.
4. Escobar, A, Cantor, F, y Cure J. 2004. Contribución al conocimiento de la biología de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae). Revista Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada. 1(1): 71-74.
5. Fernandez, S., and A. Montagne. 1990a. Biología del minador del tomate, *Scrobipalpula absoluta* (Meyick). Bol. Entomol. Venez N. S. 5(12):89-99.
6. Genc H. 2006. General principles of Insect Nutritional ecology. Takaya University journal of science. 7(1):53-57.
7. Limonta L, Stampini M, Locatelli D. 2010. Egg hatching at different temperatures and relative humidities in *Idaea inquinata* (Scopoli) (Lepidoptera: Geometridae). 10 th international working conference on stored product protection.
8. Limonta J, Sulo J y Locatelli D. 2010. Temperature-dependent development and survivorship of *Idaea inquinata* (Scopoli) (Lepidoptera: Geometridae) eggs at two humidity levels. Journal of entomological and acarological research. 42(3): 153-160.
9. Mihsfeldt L y Parra J. 1999. Biología de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) en dieta artificial. Sci. agric. [online]. 56 (4): 769-776.
10. Morales J y Muñoz L. 2008. Acción combinada de feromona sexual y avispas de la especie *Apanteles gelechidivoris* para el control de *Tuta absoluta* en cultivos comerciales de tomate. Trabajo presentado para optar AL título de biólogo. Programa biología aplicada. Facultad de ciencias básicas. Universidad Militar Nueva Granada.
11. Morton A. 1979. Rearing butterflies on artificial diets. Journal of research on the lepidoptera. 18(4) :221-227.
12. Parra J. 2007. Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. Universidade de Sao Paulo. Escola superior de agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ/FEALQ. 6 Ed, rev. Ampl. 134 p.
13. Pierce J, Monk Y. 2007. Influence of Management on Crop Microclimate and Control of Cotton Bollworm, *Helicoverpa zea* Boddie. Universidad de Nuevo Mexico.
14. Pinheiro F, Rosato G, Garcia M, Manzoni C, Bernardi O y Zart M. 2006. Biología de *helioverpa zea* (boddie, 1850) (lepidoptera: noctuidae) em duas dietas artificiais. Revista brasileira agrociencia. 12(2):167-171.
15. Qayyun A y Zalucky P. 1987. Effects of high temperature on survival of eggs of *heliethia armigera* (hubner) and *h. punctigera wallengren* (lepidoptera: noctuidae). Journal of Australian entomology society. 26:295-296.
16. Vélez R. 1997. Plagas agrícolas de impacto económico en Colombia: bionomía y manejo integrado. Editorial Universidad de Antioquia, Medellín, p. 379-385.